

## 5. Zusammenfassung

Endotheliale  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierte Kaliumkanäle ( $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanäle) spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation des Gefäßtonus. Nach der Stimulation des Endothels durch humorale oder mechanische Faktoren kommt es über eine Ionenkanalaktivierung zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration und daraus folgend zu einer Freisetzung endothelialer Vasodilatoren. Die  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanäle ermöglichen den Kalziumeinstrom in die Zelle, indem sie eine Hyperpolarisation des Endothels bewirken und somit die elektrochemische Triebkraft für den Kalziumeinstrom bereit stellen. Die Expression und Funktion der verschiedenen Subtypen von  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanälen variiert erheblich in den verschiedenen Endothelarten.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Elektrophysiologie und Genexpression von  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanälen einzelner EC in der ACC der Ratte *in situ* untersucht. Die gemessenen Ströme zeigten die Charakteristika der  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Subtypen mit niedriger ( $\text{SK}_{\text{Ca}}$ ) bzw. mittlerer ( $\text{IK}_{\text{Ca}}$ ) Leitfähigkeit in Bezug auf ihre Kalziumabhängigkeit, Einwärtsrektifizierung, Unabhängigkeit vom Membranpotential, selektive Blockade durch APA und CLT und die Aktivierung durch den  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanalöffner 1-EBIO. Bei zusätzlich durchgeführten Membranpotenzialmessungen elektrisch gekoppelter Zellen des intakten Endothels konnte durch ACh eine Zellhyperpolarisation hervorgerufen werden, die durch APA und CTX vollständig blockiert und durch 1-EBIO dosisabhängig verstärkt werden konnte. Parallel dazu wurde die Expression des  $\text{IK}_{\text{Ca}1}$  und des  $\text{SK}_{\text{Ca}3}$  mittels Einzelzell-RT-PCR detektiert. Es ist somit der Nachweis gelungen, dass die  $\text{Ca}^{2+}$ -aktivierten Kaliumströme im intakten Endothel der ACC der Ratte auf der Expression dieser beiden Gene basieren. Der  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanal mit hoher Leitfähigkeit ( $\text{MK}_{\text{Ca}}$ ) konnte dagegen weder in den funktionellen noch in den molekularbiologischen Untersuchungen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Subtypen  $\text{SK}_{\text{Ca}3}$  und  $\text{IK}_{\text{Ca}1}$  die agonisten-induzierte endotheliale Hyperpolarisation der ACC der Ratte vermitteln und somit eine wichtige Rolle bei der endothelvermittelten Vasodilatation spielen.

Nach Ballonkatheterdilatation zeigen sich im regenerierten Endothel phänotypische und funktionelle Veränderungen. Dies führt u.a. zu einer verminderten Zellhyperpolarisation und einer gestörten endothelabhängigen Vasodilatation. In der vorliegenden Arbeit wurde daher die Funktion und Expression der  $\text{K}_{\text{Ca}}$ -Kanäle im regenerierten Endothel sechs Wochen nach

Ballonkatheterdilatation untersucht. Dabei war die Prozentzahl der EC, die die  $K_{Ca}$ -Gene exprimierten bei den regenerierten Endothelzellen ( $IK_{Ca}$   $22 \pm 9$  % und  $SK_{Ca}$   $12 \pm 8$  %) im Vergleich zu deren Expression in den nativen EC ( $IK_{Ca}$   $64 \pm 10$  % und  $SK_{Ca}$   $58 \pm 8$  %) signifikant niedriger. Die Patch-clamp-Untersuchen ergaben im regenerierten Endothel eine stark verminderte agonisten-induzierte Hyperpolarisation (Änderung des Membranpotentials  $-6 \pm 3$  mV) im Vergleich zum nativen Endothel (Änderung des Membranpotentials  $-21 \pm 5$  mV). Außerdem konnten im regenerierten Endothel bei deutlich weniger EC als im nativen Endothel kalziumaktivierte hyperpolarisierende  $K^+$ -Auswärtsströme beobachtet werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass das regenerierte Endothel nach Ballondilatation eine deutlich verminderte Fähigkeit zur Hyperpolarisation aufweist, die auf eine im Gegensatz zum nativen Endothel erniedrigte Expression der  $K_{Ca}$ -Kanäle zurückzuführen ist. Die erniedrigte Expression und Funktion der  $K_{Ca}$ -Kanäle erklärt also zumindest teilweise die Verminderung der endothelabhängigen Vasodilatation im regenerierten Endothel.